Winder A.G 1950

Archiv für Mikrobiologie, Bd. 15, S. 42—71 (1950).

(Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn.)

Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze.

I. Die Bedeutung organischer Nährstoffe für die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre und im freien Boden.

Von

A. Gerhard Winter.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. April 1949[1].)

Unsere Kenntnisse von der Ökologie bodenbewohnender parasitischer oder saprophytischer mikroskopischer Pilze sind nur gering. Das wird besonders deutlich bei Durchsicht der Zusammenfassung von Niethammer (1937). Sie versucht lediglich, zwischen bestimmten Bodentypen und dem Auftreten einzelner Pilze oder Pilzgruppen Beziehungen zu knüpfen. Ob ein solches Verfahren genügt, d. h., daß die Klassifizierung der Böden zusammenfällt mit einer Absonderung bestimmter wachstumbestimmender Faktoren, erscheint zumindest in vielen Fällen fraglich. Davon abgesehen fehlen jedoch fast jegliche Erfahrungen, die das Auftreten oder Fehlen einer Pilzart erklären könnten. Das hat seine Ursache vor allem darin, daß quantitative Untersuchungen über die Entwicklungsmöglichkeiten von mikroskopischen Bodenpilzen in Abhängigkeit von Umweltfaktoren bisher kaum möglich waren. Man hat zwar infolge der praktischen Bedeutung bodenbewohnender Pflanzenparasiten, insbesondere von phytopathologischer Seite, versucht, hier zu neuen Erkenntnissen zu kommen, ist aber in der Regel methodisch gescheitert. So ist es das Verdienst von Schaffnit und seiner Schule, Schaffnit und Meyer-Hermann (1930), Liesau (1932), sich eingehender mit den Lebensbedingungen pflanzenparasitischer bodenbewohnender Pilze in ihrem saprophytischen Lebensabschnitt befaßt zu haben. Ihre Untersuchungen und ebenso die Arbeiten von K. O. Müller (1924) über *Rhizoctonia* verlieren bei aller Genauigkeit jedoch wesentlich an Bedeutung, wenn man die Resultate, die im sterilisierten Erdboden gewonnen wurden, auf den natürlichen mikrobendurchsetzten Boden übertragen will. Natürlicher und steriler Boden sind zwei völlig verschiedene Medien, einmal physikalisch-chemisch, insbesondere aber in biologischer Hinsicht. Welche Bedeutung Nahrungskonkurrenz und gegenseitige Beeinflussung der Mikroben durch Bildung oder Zerstörung von Antibioticis, Wirkstoffen, p_H- oder R_H-Änderungen haben, das ergibt die Differenz in den Resultaten des Kulturversuchs eines Organismus in sterilem und natürlichem Boden mit aller Evidenz. Ebensowenig führt uns die Wahl eines anderen sterilen Mediums weiter. Man denke nur an die unterschiedliche gegenseitige Beeinflussung zweier Organismen auf verschiedenen Böden infolge der Abhängigkeit der Bildung bestimmter Antibiotica vom Substrat. Die Übertragbarkeit in steriler Kultur gewonnener Ergebnisse auf natürliche Böden wird ferner dadurch in Frage gestellt, daß die Bildung bzw. Wirkung der

[1] Von der Redaktion der „Botanica oeconomica" im Juli 1948 angenommen; die Zeitschrift hat jedoch ihr Erscheinen einstellen müssen.

Antibiotica durch Gegenwart anderer Mikroben beseitigt werden kann. Dieses gilt für das von *Penicillium*-Arten ausgeschiedene Notatin, das von Hefe leicht zerstört wird, und ebenso für eine durch den Verfasser untersuchte *Penicillium*-Art, die ein gegenüber *Ophiobolus graminis* stark wirksames Antibioticum ausscheidet, das durch gleichzeitige Anwesenheit einer *Cladosporium*-Art unschädlich gemacht wird. Da in letztem Fall zudem die Bildung des Antibioticums z. B. nur auf Glykose und Biomalz, nicht aber auf Peptonnährböden erfolgt, ergibt sich hier bereits bei Gegenwart von drei Organismen *(Ophiobolus graminis, Penicillium spec.* und *Cladosporium spec.)* und Verwendung von verschiedenen Nährböden eine Vielzahl von Möglichkeiten für das Auftreten und Ausbleiben antibiotischer Erscheinungen. Wieviel komplizierter und unübersichtlicher werden die Verhältnisse im Boden bei der Vielfalt der Organismen und der Mannigfaltigkeit der Nährsubstrate!

Sicher benötigen wir auf der einen Seite die Untersuchung der „Ökologie" unter sterilen Verhältnissen, um in grundsätzlichen Fragen Klarheit zu erhalten. Bei dem überaus komplexen Geschehen im Boden erscheint es aber zumindest als fernes Ziel, auf diesem synthetischen Wege bis zur Kenntnis der wirklichen Ökologie am natürlichen Standort vorzudringen.

Mit Hilfe einer von Winter (1947) angegebenen Methode[1] kann die Wirkung verschiedener Umweltfaktoren auf mikroskopische Bodenpilze nunmehr in natürlichem Boden überprüft werden. Allerdings muß dabei berücksichtigt werden, daß jede Änderung des Milieus gleichzeitig die übrigen Bodenorganismen beeinflußt. Das hat bei den zahlreichen Korrelationen zwischen verschiedenen Mikroben zur Folge, daß häufig nicht entschieden werden kann, ob der betreffende Faktor unmittelbar oder indirekt durch Verschiebung anderer Milieubedingungen zur Wirkung kam, und daß seine Wirkung sich der Vorhersage entzieht. Es wird sich zwar in Einzelfällen durch verschiedene Experimente erschließen lassen, in welchen Bahnen der Kausalnexus verlief, doch muß anerkannt werden, daß hier vom Standpunkt rein kausaler Forschung eine Schwierigkeit besteht. Nicht so sehr für den angewandten Wissenschaftler, dem es unter Umständen genügen kann, die Wirkung eines bestimmten Faktors in einem bestimmten Fall zu kennen. Auch ihm bietet genaue Kenntnis der Kausalketten Vorteile, sofern das Geschehen nicht so komplex und verzahnt ist, daß eine Vorausbestimmung des endlichen Resultats den unsicheren Charakter einer „Wettervorhersage" annimmt.

Die Eigenart des Bodens als physikalisch-chemisch-biotischer Komplex mannigfaltigster Zusammensetzung läßt allerdings erwarten, daß die vielfältige Verflechtung der Komponenten nicht nur eine Aussage über die voraussichtliche Wirkung eines Faktors in einem bestimmten

[1] Bei einem Besuch in Rothhamsted im Mai 1947 ergab sich im Gespräch mit S. D. Garrett, daß von seinem Schüler J. D. Blair 1944 annähernd die gleiche Methode zur Untersuchung von *Rhizoctonia solani* verwendet wurde. Die Arbeit war mir bei der erstmaligen Publikation des Verfahrens (Appel-Festschrift, 1947) infolge des Krieges bis dahin unbekannt.

Boden, sondern auch die Übertragung der beobachteten Resultate auf einen anderen Boden unmöglich macht.

Nicht selten findet man in der Literatur widersprechende Angaben über die Abhängigkeit verschiedener, durch pflanzenpathogene Bodenpilze verursachter Krankheiten von Kulturmaßnahmen oder der Zufuhr bestimmter Substanzen. So konnte z. B. REA (1939) den Erfolg von KING (1937) in der Bekämpfung des Wurzelparasiten der Baumwolle, *Phymatotrichum omnivorum*, mit Hilfe organischer Dünger nicht bestätigen. Ebenso ist nach GARRETT (1944, S. 103) die von SANFORD (1926) beobachtete schorfvermindernde Wirkung einer Gründüngung durchaus nicht regelmäßig zu erwarten. Man ist nur zu leicht geneigt, diese Angaben auf Ungenauigkeit der Methodik zurückzuführen. Ist es aber nicht denkbar, daß diese Unsicherheit sich bemerkbar macht, sowie der Boden als mitbestimmender Faktor für das Versuchsresultat auftritt? Sind nämlich zwei Böden, die verschiedenen Orts für den gleichen Versuch verwandt wurden, nicht zumeist so verschieden in ihren physikalisch-chemischen und biotischen Eigenarten, daß bei nur allzu leicht zu erwartenden mittelbaren Kausalketten der Pilz von gleichen Faktoren im Endeffekt unterschiedlich, ja invers, beeinflußt wird? Es besteht darüber hinaus die Frage, ob die Änderung eines Faktors im natürlichen Boden überhaupt gesetzmäßige Beziehungen zum Wachstum eines Bodenpilzes erkennen läßt, wie wir das von sterilen Kulturen als Regel kennen. Ist es also z. B. selbstverständlich, daß eine Gründüngung oder andersartige organische Stoffzufuhr bei hemmender Wirkung auf einen parasitischen Bodenpilz in doppelter Menge eine gleichsinnige gesteigerte Wirkung erkennen läßt? Wäre es nicht bei der möglicherweise in diesem Vorgang verknüpften Vielfalt von ineinandergreifenden Prozessen denkbar, daß bei veränderter Gabe eine inverse Wirkung auftritt und bei gleichmäßig fortgesetzter Steigerung Hemmung und Förderung unregelmäßig wechseln?

Das Ziel der nachstehenden Arbeit ist, dieser grundsätzlichen Frage nachzugehen.

A. Allgemeines zur saprophytischen Entwicklung von *Ophiobolus graminis*.

Die Ökologie von *Ophiobolus graminis* ist durch frühere Untersuchungen (GARRETT, WINTER) weit eingehender als die der meisten anderen mikroskopischen Bodenpilze am natürlichen Standort bekannt geworden. Zudem hat dieser Pilz infolge seiner morphologischen (im Boden leicht erkennbar) und physiologischen (durch Antibiotica leicht zu beeinflussen) Eigenheiten für solche Untersuchungen besondere Vorzüge. Schließlich fällt dieses Problem weitgehend zusammen mit der Bekämpfung bodenbewohnender Pflanzenparasiten in Abwesenheit ihrer Wirtspflanzen

durch Zersetzung ihres Mycels in Pflanzenresten bzw. durch Hemmung ihrer saprophytischen Entwicklung.

Wir wußten bis vor kurzem sehr wenig darüber, wie weit und ob es möglich ist, die Bodenverseuchung durch kulturelle Maßnahmen herabzusetzen. Das hat die bereits angeführten Gründe: Überschätzung des saprophytischen Wachstums durch Berücksichtigung der in künstlicher Kultur oder sterilisiertem Boden zu erreichenden Entwicklung und die Unmöglichkeit, das Wachstum der Pilze im Boden quantitativ zu erfassen.

Es ist insbesondere das Verdienst von GARRETT (1938), in diese Gebiete mit neuartiger Methodik vorgestoßen zu sein. GARRETT ließ Weizenhalme, die mit einer Abkochung von string beans (1 l b. str. b. in 4 l Leitungswasser für 4000 5 cm lange Strohhalme) getränkt waren, 1 Monat bei 25° C steril von *Ophiobolus graminis* durchwachsen, brachte sie dann in den Boden und untersuchte in verschiedenen Abständen ihre Infektionsfähigkeit auf folgende Weise: Die Halme wurden aus dem Boden herausgewaschen, aufgespalten und in den Spalt ein Weizenkorn eingeführt und das Ganze in feuchten Sand gelegt, in dem *O. graminis* die stärkste Infektionskraft entfaltet. Im Verlauf seiner Untersuchungen kam GARRETT zu der Feststellung, daß die Zersetzung des Mycels am raschesten bei mittleren Temperaturen, günstiger Bodenfeuchtigkeit und guter Durchlüftung erfolgt. Ebenso beschleunigen Zugaben N-armer Stoffe wie Glykose, Stärke oder rye-grass meal zum Boden die Zerstörung des Mycels. In entgegengesetzter Richtung wirken N-reiche Stoffe wie getrocknetes Blut oder anorganische N-Verbindungen. GARRETT nahm zunächst an, daß bei N-Mangel antagonistische Mikroben das *Ophiobolus*-Mycel als N-Quelle angreifen und dementsprechend alle Faktoren, die die Mikrobenentwicklung fördern und dadurch N-Mangel auslösen, zu einer raschen Zerstörung des Mycels führen. Weitere Untersuchungen zeigten dann aber, daß das *Ophiobolus*-Mycel seine Vernichtung in den Zellen der Halme nicht untätig erwartet. Vielmehr erfolgt im Boden eine weitere Entwicklung des Pilzes in den Halmen durch Ausbildung dunkler Hyphen. Diese ist aber infolge der N-Armut des Substrates weitgehend vom N-Gehalt des Bodens bestimmt. Setzt durch Zugabe von N-armen Stoffen wie Glykose und dergleichen eine Überentwicklung von Mikroben ein, so ist der vorhandene Stickstoff rasch verzehrt, *O. graminis* muß sein Wachstum einstellen und verfällt damit der Auflösung. Umgekehrt fördern N-Gaben die *Ophiobolus*-Entwicklung im Stroh, *beschleunigen so die Zersetzung* des Strohs und *verzögern* den Beginn des *Mycelzerfalls*. Dementsprechend erweist sich auch das Stroh, wenn *Ophiobolus* rasch abstirbt, als wenig, bei langer Lebensdauer des Pilzes als stark zersetzt.

Allerdings gräbt *O. graminis* damit auf längere Sicht sein Grab (siehe unten). Es setzt nämlich relativ lange Erhaltung des Mycels im Boden relativ rasche Zersetzung des Strohs voraus. Infolge dieser sich von einer gewissen Grenze ab gegenseitig ausschließenden Erscheinungen ist der Erhaltung der Infektionskraft des Pilzes im Stroh mit der restlosen Zerstörung des Gewebes durch *O. graminis* eine natürliche, ziemlich tiefe Grenze gesetzt. Entweder muß die Infektionskraft verschwinden, weil das zu langsam wachsende Mycel zerfällt, oder die Hyphen gehen bei guten Wachstumsbedingungen ein, weil das Stroh ganz zersetzt ist. Bei beschränkter, für den Pilz erreichbarer Strohmenge müßte daher bei mittleren Wachstumsbedingungen, die eine Mycelzersetzung noch gerade verhindern, aber mit dem Cellulosevorrat sparsam wirtschaften lassen, die Verseuchung am längsten erhalten bleiben. Wenn GARRETT diese Gesetzmäßigkeit nicht beobachtete, so kann

das — weitgehende Parallelität zwischen N-Gehalt und Strohzersetzung vorausgesetzt — nur darin begründet sein, daß er bei den Stickstoffgaben mengenmäßig nicht genug variierte und die Grenze, die durch den Cellulosevorrat im Stroh gesetzt ist, nicht erreicht wurde.

GARRETT sieht also nach anfänglichen Erklärungsversuchen in anderer Richtung den Vorgang der Mycelbildung — allerdings innerhalb des Halmgewebes — als entscheidend für die Erhaltung der Bodenverseuchung an. Ohne Kenntnis dieser Arbeit (GARRETT 1940) hat WINTER (1947) auf Grund seiner Beobachtungen über das Wachstum von *O. graminis* auf CHOLODNY-Platten geschrieben: „Dem saprophytischen Wachstum von *O. graminis* könnte also doch größere Bedeutung zukommen, als nach den Beobachtungen GARRETTS (1938) und eigenen Erfahrungen (WINTER 1942) anzunehmen war. Bei den eigenen Untersuchungen reichte die angewandte Methodik (direkte Beobachtung des Mycels an der Bodenoberfläche mit dem Binokular) nicht aus, um die hier auftretenden feinen Unterschiede zu erfassen; denn das mag hier noch hervorgehoben werden: Das Wachstum im Boden wird bei Bodenpilzen zumeist so schwach sein, daß es mit den Verhältnissen auf künstlichen Nährböden nicht zu vergleichen ist. Es ist aber dann zu berücksichtigen, daß jahrelang vorhandene minimale Unterschiede in der Pilzentwicklung sich summieren und dann doch wirksam in Erscheinung treten können."

GARRETT konnte bei seiner Untersuchungsmethodik jedoch das saprophytische Wachstum, das sich eventuell von den infizierten Halmen aus in den Boden hinein vollzieht, nicht erfassen, da er die Halme nach dem Entfernen aus dem Boden gründlich abwusch. Diese Tatsache verdient besondere Aufmerksamkeit im Zusammenhang mit der von FELLOWS (1941) und RUSSEL (1934) gemachten Beobachtung, daß zwar der größte Teil des Pilzmycels ziemlich rasch verschwindet, daß aber ein merklicher Teil der Infektionskraft des Bodens (bei völliger Abwesenheit von irgendwelchen höheren Pflanzen) über zwei Jahre erhalten bleibt. Künstlich infizierte Strohstückchen waren dagegen (GARRETT 1940) im Feld nach 11 Monaten (September bis Juli) nur noch in einem von hundert Fällen, natürlich infizierte Strohteile nach der gleichen Zeit noch in dreizehn von hundert Fällen infektionsfähig. Das deutet wohl darauf hin, daß wir zwischen einer Infektionsfähigkeit des Bodens und der Langlebigkeit des Mycels im Stroh unterscheiden, d. h., daß wir das Wachstum des Pilzes von dem infizierten Stroh aus in den Boden hinein berücksichtigen müssen, wenn wir die gegenüber myceldurchwachsenen Strohhalmen längere Infektionsfähigkeit des gesamten Bodens verstehen wollen.

Der Nachweis saprophytischer Entwicklung, die unabhängig vom Gewebe befallener Pflanzen oder von anderweitig eingebrachten Nährstoffen frei im Boden erfolgt, konnte vom Verfasser durch den nachfolgenden Versuch erbracht werden. Er untersuchte (Abb. 1) die Hyphenentwicklung aus einem von *Ophiobolus* durchwachsenen Stückchen Biomalzagar von 6 mm Durchmesser auf Objektträgern in natürlichem und bei 100° C in strömendem Dampf partiell sterilisiertem Lößlehm mit geringem Humusgehalt. Die Objektträger wurden auf den Boden von Petrischalen gelegt, mit dem gleichmäßig feuchten (40% der m. W. K.) und gekrümelten Boden bedeckt und im Thermostaten bei 20° C und konstanter Bodenfeuchtigkeit gehalten. Nach verschiedenen, aus der Abb. 1 ersichtlichen Zeiten, wurden Objektträger aus den Schalen entnommen und das Wachstum des Pilzes gemessen (siehe unten). Das

Wachstum im unbehandelten Boden stieg bis zur 25. Woche langsam an, dagegen fiel das zunächst starke Wachstum im partiell sterilisierten Boden steil ab und erhöhte sich später wieder, so daß es schließlich die gleichen Werte wie im natürlichen Boden erreichte.

In den schon im Augenblick des Einbringens in den Boden nährstoffarmen Agarplättchen können schwerlich nach einem monatelangen Verbleiben im Boden und damit verbundener Besiedlung durch verschiedenste Bodenmikroben noch irgendwelche Reste des leicht zu verwer-

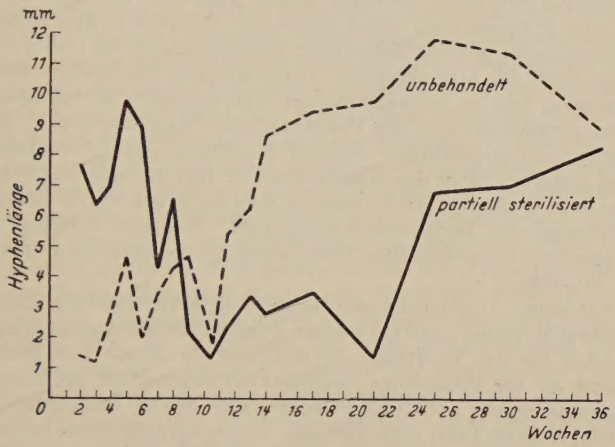


Abb. 1. Wachstum der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis* auf Glasplatten nach verschieden langem Verbleiben in partiell sterilisiertem und natürlichem Boden (Lößlehm, 40% m. W. K.).

tenden Biomalz vorhanden sein. Es muß sich daher das Mycel in den letzten Monaten aus den im Boden vorhandenen Nährstoffen, wenn auch schwach, entwickeln können. Das Absinken der Ausdehnung des Pilzes im partiell sterilisierten Boden erklärt sich so, daß zunächst durch Überentwicklung von *Actinomyceten* (vgl. hierzu die ausführlichen Erläuterungen der Kurve bis zur 17. Woche bei Winter 1949) eine Zerstörung des größten Teils der *Ophiobolus*-Hyphen erfolgt und nur die älteren, den Impfstücken näheren Partien teilweise erhalten blieben. Aus ihnen, die also zumeist gar keinen Konnex mehr mit den fast ganz zersetzten Impfstücken haben, regeneriert sich nun das Mycel, wenn die Überentwicklung der Actinomyceten abgeklungen und der Boden nach etwa einem halben Jahr zum Normalzustand zurückgekehrt ist. Es entwickelt sich relativ kräftig und erreicht bald die gleiche Ausdehnung wie in natürlichem Boden.

Die Existenz freier Mycelien außerhalb des befallenen Pflanzengewebes, sei es, daß sie die Nahrungsstoffe aus der Bodenlösung aufnehmen, sie aus Geweberesten im Boden frei machen (verstärkte Entwicklung in der Nähe und Durchsetzung von Pflanzenresten durch

Ophiobolus graminis ist auf den Objektträgern häufig zu erkennen) oder in bereits befallenen Pflanzenteilen weiterwuchern, ist also anzunehmen und offensichtlich von erheblicher Bedeutung für die Biologie und den Massenwechsel des Pilzes. *Die Untersuchung dieser Mycelentwicklung in Abhängigkeit vom Nährstoffgehalt des Bodens ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.*

Zu klären bleibt außerdem die Frage, ob der Mycelzersetzung in den Stoppeln oder der Entwicklung der saprophytischen Mycelien im Boden die größere praktische Bedeutung zukommt. Häufiger Anbau anfälliger Pflanzen in Abständen von nur 1 oder 2 Jahren wird soviel verseuchte Stoppeln in den Boden bringen, daß die Beschleunigung ihrer Zersetzung vordringlichstes Ziel aller Kulturmaßnahmen sein muß. Die saprophytische Durchdringung des Bodens wird daneben so bedeutungslos, daß in ausgesprochenen Weizenländern der Schwerpunkt der Bekämpfung ausschließlich in der Forcierung der Stoppelzersetzung liegen muß. Trennt dagegen ein mehrjähriger Abstand das Erscheinen der Wirtspflanzen, so gewinnt die Unterdrückung der saprophytischen Entwicklung an Bedeutung, da sie nach der oben erwähnten relativ raschen Zersetzung des Mycels in den Stoppeln alleinige Trägerin der Bodenverseuchung wird. Welchem Vorgang also unser größeres Interesse vom praktischen Standpunkt aus gehören muß, hängt von der jeweiligen Fruchtfolge ab.

Es soll mit diesen Untersuchungen über die Mycelentwicklung keineswegs der Nachweis erbracht werden, daß ein solcher Vorgang für die Ausbreitung des Pilzes im Boden, d. h. für das Vordringen in unverseuchte Areale von Bedeutung ist. Dafür ist diese Art des Wachstums gegenüber der Möglichkeit, größere Entfernungen durch Parasitierung anfälliger Pflanzen oder in der Rhizosphäre nicht anfälliger Arten (WINTER 1948) zurückzulegen, zu geringfügig. Auch haben PADWICK (1935), ADAM und COLQUHOUN (1936) sowie FELLOWS und FICKE (1939) die Bedeutungslosigkeit solcher Erscheinungen überzeugend dargelegt. Nur ihr Anteil bei der Erhaltung der Bodenverseuchung durch saprophytische Entwicklung ist in diesem Zusammenhang wichtig.

Es erscheint von besonderem Interesse, den Einfluß der zu prüfenden Faktoren in Parallelversuchen auf die sogenannten Laufhyphen des Pilzes zu untersuchen. Sie sind ein Teil der parasitischen Phase, wachsen aber unter ständigem Abzweigen farbloser, feinverzweigter Infektionshyphen in das Wurzelinnere als dunkle Hyphen auf der Wurzeloberfläche anfälliger Pflanzen. So sind sie unter optimalen Ernährungsbedingungen doch allen anderen Einflüssen in der Rhizosphäre ausgesetzt. Die Untersuchung der Laufhyphen hat daher zwei Vorteile. Sie ermöglicht den Vergleich der in der Rhizosphäre und im freien Boden herrschenden Bedingungen und erlaubt infolge der optimalen Ernährung des Pilzes indirekte Wirkungen von Nährstoffen zu isolieren.

B. Zur Methodik.

1. Die saprophytische Phase von Ophiobolus graminis.

Aus gut vom Pilz durchwachsenen Biomalzagarplatten (10 cm^3 je Petrischale) wurden mit dem Korkbohrer 5 mm große Stücke herausgestanzt und zu je zweien auf Glasplatten gebracht, die auf der Unterseite mit Fettstift beschriftet, auf den

Boden von Petrischalen gelegt und dann mit Erde gleichmäßig locker bedeckt wurden. Beschriftung mit Fettschrift auf der Oberseite muß vermieden werden, da *Ophiobolus graminis* und andere Bodenpilze das Fett leicht zersetzen und auf und um die Beschriftung ein dichtes, kräftiges Mycel bilden. Die lockere Bedeckung erfolgte, damit nicht der Kohlendioxydgehalt der Bodenluft für den sehr CO_2-empfindlichen Pilz (WINTER 1939) zum begrenzenden Faktor wurde, und seine Veränderung durch Zufuhr organischer Nahrung störend in die Versuchsergebnisse eingriff. Die Böden waren luftgetrocknet, gesiebt und in einer Neubauerschale mit aqua dest., das den jeweils angegebenen Prozentsatz an Biomalz, Pepton, Glykose usw. in gelöster Form enthielt, bis zu 40% der m. W. K. unter gründlichster Durchmischung abgesättigt und zum Teil in lufttrockenem Zustand 2 Std in strömendem Dampf bei 100° C partiell sterilisiert. Nach 14tägiger Aufbewahrung bei konstanter Temperatur wurden die Objektträger herausgenommen und die Entfernung zwischen Agarrand und den am weitesten vorgedrungenen Hyphen in 4 aufeinander senkrechten Richtungen mit Hilfe eines Kreuztisches bestimmt. Jedem Einzelwert liegen dabei in der Regel 90—110 Messungen zugrunde, so daß innerhalb eines Versuches auftretende Schwankungen weitgehend ausgeglichen werden. An sich wäre für jeden Wert die Feststellung des mittleren Fehlers wünschenswert gewesen. Sie war nicht ohne einen unverhältnismäßig hohen Arbeitsaufwand durchführbar, da dieser Arbeit insgesamt etwa 40000 Messungen zugrunde liegen. Um diesem Mangel abzuhelfen, wurde zu einer großen Anzahl von Versuchen eine dreifache Kontrolle ohne Nährstoffzusatz angesetzt. Die Werte sind jeweils rechts von den Kurven eingetragen. An Hand der Streuung zwischen den zusammengehörenden Kontrollen kann man die Bedeutung der nach Nährstoffzusatz auftretenden Wachstumsschwankungen annähernd beurteilen und entscheiden, ob sie mit dem variierten Faktor in Zusammenhang gebracht werden können. Diese weitgehende Sicherung der experimentellen Ergebnisse gegen die trotz peinlich genauer Versuchsdurchführung in der Methode selbst begründete Streuung ist von grundlegender Bedeutung.

Trotz diesen ständigen Kontrollen der Versuchsergebnisse galt es, die Werte durch Herabsetzung der beobachteten Schwankungen nach Möglichkeit weiter zu verbessern. Insbesondere könnte das Alter der verwendeten Kulturen und bei Gebrauch gleichaltriger Herkünfte der Ort auf der Agarplatte, von dem das Plättchen stammt, das Wachstum beeinflussen. Der Pilz vollzieht nämlich im Boden, zumindest bei kurzer Versuchsdauer, sein Wachstum hauptsächlich aus dem Nährstoffgehalt des Plättchens. In einer feuchten Kammer dringen aus solchen Agarstückchen kräftige Hyphen hervor und wachsen vereinzelt bis zu 35 mm über den Objektträger. Es könnte also namentlich bei jungen, gerade bis zum Rande der Schale gewachsenen Kolonien von Bedeutung sein, ob das Agarstückchen vom Rande einer Kolonie oder aus der Mitte stammt. Der Nährboden in der Mitte wird ziemlich erschöpft sein, während in den mehr sklerotialen Geweben erhebliche Reserven gespeichert sind. Der Agar am Rande dagegen ist bei jungen Kulturen nährstoffreich, das Pilzmycel aber noch arm an Reservestoffen. Die Agarstückchen werden nun im Boden leicht von Bakterien und Pilzen besiedelt. Dann bieten die Agarstückchen vom Rande einer jungen Kolonie infolge ihres Reichtums an Nährstoffen und des Fehlens antibiotischer Stoffe nur zu leicht bessere Bedingungen zur Ansiedlung und damit zur Nahrungskonkurrenz oder gar zur Ausscheidung für *Ophiobolus graminis* ungünstiger Stoffwechselprodukte. Auf älteren Ophiobolus-Kulturen siedeln sich dagegen, auch wenn man sie stärksten Infektionen durch Luftkeime aussetzt, kaum jemals Mikroben an.

Es mußten daher einmal das Wachstum verschiedenaltriger Kulturen und anderseits der Rand und Mittelpartien gleichaltriger Kulturen

verglichen werden. Das Ergebnis eines solchen Versuches zeigt die Tab. 1.

Der innerste Teil, aus dem Agarstückchen entnommen wurden, ist ein Kreis mit 14 mm Radius um den Mittelpunkt. Längs dieses Kreises wurden die Scheibchen ausgestochen. Die mittleren Plättchen stammen aus einem Kreis mit 28 mm Radius, die äußeren aus dem peripheren Kreis am Rand der Schalen mit etwa 40 mm Radius. Der Versuch begann am 8. 4., als der Pilz in der am 30. 3. beimpften Platte gerade den Rand der Petrischalen erreicht hatte.

Tabelle 1.

Datum, an dem die Platten beimpft wurden	Wachstum nach 14tägiger Versuchsdauer bei 20°. Die Plättchen sind entnommen aus den Petrischalen vom		
	inneren Teil	mittleren Teil	äußeren Teil
Juli 1947	0,4	0,3	0,1
Herbst 1947	0,1	0,1	0,1
„ 1947	0,1	0,1	0,1
2. März 1948	1,8	1,6	1,3
2. „ 1948	1,1	1,0	1,9
2. „ 1948	1,5	1,0	1,5
16. „ 1948	1,3	1,1	1,1
16. „ 1948	0,9	1,0	1,0
30. „ 1948	1,0	1,2	1,6
30. „ 1948	1,3	1,4	1,3
30. „ 1948	1,1	1,3	1,4

Altersunterschiede der Kultur von einem Monat sind also ohne Bedeutung. Erst bei sehr alten Platten zeigt sich eine allerdings erhebliche Schwächung der Entwicklung. Es ist in jedem Fall bedeutungslos, ob das Plättchen vom Rande, dem Zentrum oder dem mittleren Teil der Kultur entnommen wird. Trotzdem wurde bei allen Versuchen darauf gesehen, daß für jeden Wert (100 Messungen) jeweils Agarstückchen aus allen Zonen der Schalen gleichmäßig entnommen wurden.

In den natürlichen Böden stimmen die 3 Kontrollwerte (vgl. Abb. 6, 8, 10) jeweils gut überein. Nur in den partiell sterilisierten Böden zeigen sich vereinzelt auffallende Differenzen. Alle Faktoren für die drei gleichzeitig laufenden Kontrollen waren aber konstant, nur die sehr gründlich vollzogene Durchmischung mit dem Wasser wurde in getrennten Neubauerschalen durchgeführt. Die Störungen sind daher vermutlich auf die in diese biologisch nicht mehr ausbalancierten Substrate wie in ein Vakuum einströmenden Infektionen (es wurde mit ihnen nur sehr sauber, aber nicht steril gearbeitet) zurückzuführen. Sie müßten nach explosionsartiger Übervermehrung (man denke an die Entwicklung von *Pyronema confluens* in partiell sterilisierten Böden) erhebliche Wachstumshemmungen für *Ophiobolus graminis* auslösen können. Alle zu-

gehörigen Einzelwerte der betreffenden Kontrolle zeigen dabei gleichbleibend den niedrigen Wert

Eine gleichzeitige Reihe von drei Kontrollwerten ließ in natürlichen Böden also gute Übereinstimmung erkennen. Zu anderer Zeit ergaben aber Kontrollen mit den gleichen Böden bei unveränderten Versuchsbedingungen plötzlich andere, aber wiederum in sich einheitliche Werte. So liegen die drei Kontrollen zu dem Glykoseversuch (Abb. 8) in unsteriler Gartenerde bei 2,2, 2,7 und 2,9 mm, während bei dem Versuch mit Pepton für die Kontrollen in natürlichem Lößlehm (Abb. 6) 3,5, 4,2 und 4,7 mm und bei Biomalz schließlich 5,3, 6,1 und 7,2 mm gemessen wurden. Temperatur, Feuchtigkeit, Herkunft und Vorbehandlung der Erde (zu gleicher Zeit getrocknet, gesiebt und gleichmäßig durchmischt) und Dauer des Versuchs waren gleich. Der einzige Unterschied bestand darin, daß der Glykoseversuch am 15. 10., der mit Biomalz am 16. 10. und der mit Pepton am 17. 10. angesetzt wurde.

Nach den Erfahrungen von Bortels (1940, 1941) lag es nahe, diese Erscheinung auf Wetterfaktoren unbekannter Natur zurückzuführen. Es wurde daher das Wachstum des Pilzes in Lößlehm und Komposterde in Abständen von 14 Tagen gemessen. Die Erdproben entstammen einer einheitlichen Menge, die seit mehreren Monaten im getrockneten und gut durchmischten Zustand aufbewahrt wurde. Es wurden in jeder Bodenart jeweils vier Wiederholungen mit je 100 Messungen durchgeführt. Die vier Parallelen wurden getrennt in vier Neubauerschalen mit Wasser bis zu 40% der maximalen Wasserkapazität gemischt. Die *Ophiobolus*-Kulturen waren stets gleich alt. Sie wurden 14 Tage vorher beimpft und anschließend bei 25° C gehalten. Es wurde ein Einsporenstamm zu diesen wie zu allen anderen Untersuchungen gebraucht. Der Versuch wurde ab 16. 3. bis 24. 8. in regelmäßigen Abständen neu angesetzt. Die vier Einzelwerte, die sich, wie gesagt, auf je 100 Messungen stützen, zeigen jeweils sehr gute Übereinstimmung (Abb. 2). Die Wieder-

Abb. 2. Saprophytisches Wachstum von *Ophiobolus graminis* in jeweils vier gleichzeitig angesetzten Kontrollen in Komposterde und Lößlehm. Die Versuchsbedingungen sind bei allen Wiederholungen identisch, nur das Datum des Versuchsbeginns ist jeweils um 14 Tage verschoben. Auftreten von Sprüngen am 16. 3. in Lößlehm, am 27. 4. und 6. 7. in Komposterde.

holungen gaben bis auf drei Ausnahmen stets die gleichen Werte. In dem Lößlehm ist das Wachstum vom 16. 3.—30. 3. eindeutig höher als in sämtlichen anderen Versuchsreihen, und ebenso schnellt in der Komposterde das Wachstum in der Zeit vom 27. 4.—11. 5. und 6. 7.—20. 7.

auf den doppelten bis dreifachen Wert. Diese Unterschiede sind noch stärker, als die Zahlen erkennen lassen, weil in der Versuchsserie mit den Werten 0,5—1,0 stets nur ganz vereinzelt unverzweigte, verkümmerte Hyphen auswuchsen, während bei den Reihen mit besserem Wachstum gleichzeitig sich das Mycel verdichtete, viel kräftiger wuchs und sich reichlich verzweigte.

Die Schwankungen in der Komposterde und dem Lößlehm treten nicht gleichzeitig auf. Es läßt sich also keine unmittelbare Beziehung zwischen Witterungsverlauf oder einem anderen mit der Zeit veränderlichen Faktor und *Ophiobolus*-Wachstum erkennen.

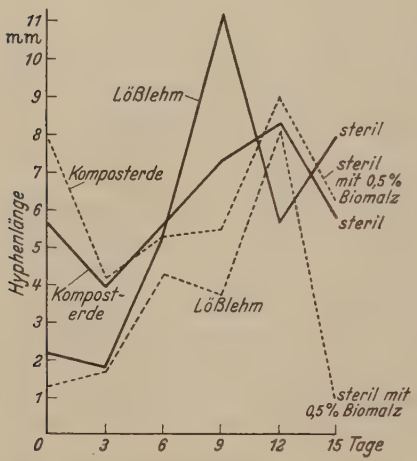


Abb. 3. Saprophytisches Wachstum von *Ophiobolus graminis* in partiell sterilisierter Komposterde und ebenso behandeltem Lößlehm mit und ohne Zusatz von 0,5% Biomalz. Auf der Abszisse ist die Zeit in Tagen eingetragen, die zwischen der partiellen Sterilisation und dem Versuchsbeginn verstrichen ist. Versuchsdauer jeweils 14 Tage.

Nimmt man aber an, daß der BORTELSsche Wachstumsfaktor oder ein anderer Einfluß auf die gesamten Bodenmikroben einwirkt, dann steht auch kaum zu erwarten, daß *Ophiobolus graminis* in beiden Böden zu gleicher Zeit reagiert. Der begrenzende Faktor für die Entwicklung ist vor allem der Gehalt der Bodenlösung an Hemmungsstoffen (WINTER 1942, 1948). Bei der Vielfalt der Organismen, die wahrscheinlich an ihrer Produktion mitwirken (WINTER 1942), ist ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Wetterfaktoren und der Entwicklung des Pilzes nicht zu erwarten. Ebensowenig ist bei den starken mikrobiologischen Unterschieden zwischen Kompost und Lößlehm anzunehmen, daß sich die Steigerung im Wachstum gleichzeitig in beiden Böden zeigen muß. Auch BORTELS (1940) beobachtete, daß der Einfluß der Wetterlage auf die N-Bindung von *Azotobacter* in Erde viel undeutlicher ist als in Nährlösung. Eine Entscheidung in dieser Frage wäre allerdings nur zu erreichen, wenn der Versuch mit den gleichen Böden, dem gleichen Impfmaterial und unter gleichen Bedingungen an verschiedenen Orten Deutschlands oder Europas gleichzeitig durchgeführt würde. Die Verschiebung der Zyklonen, die ja nach BORTELS mit dem maßgebenden Faktor bei der Wetterbeeinflussung gekoppelt ist, müßte sich dann in einer Phasenverschiebung der Wachstumssteigerung bemerkbar machen.

Auch das Auftreten besser wachsender Mutanten erklärt nicht die plötzlich auftretenden Entwicklungssprünge. Es wäre dann nicht zu verstehen, daß bei Verwendung des gleichen Impfmaterials das bessere Wachstum (bei völliger Einheitlichkeit der Werte im Kompost bzw. dem Lößlehm) nicht in beiden Böden gleichzeitig auftritt und im nächsten Versuch wieder verschwindet.

Sieht man von diesen also relativ selten auftretenden Sprüngen ab, so ist während eines Versuches die Konstanz der Bedingungen weitgehend gewahrt. Dagegen müssen wir nach der partiellen Sterilisation mit dauernden und überaus starken Verschiebungen im Bodenzustand rechnen (Abb. 3). Das am Ende einer Versuchsperiode von 14 Tagen erhaltene Ergebnis setzt sich also nicht aus 14 gleichen Tagesresultaten zusammen. Vielmehr finden im Boden dauernd Veränderungen statt, die an jedem Tag nach der partiellen Sterilisation das Pilzwachstum anders beeinflussen. Besonders interessant ist der Kurvenverlauf in der Gartenerde. Wir haben hier einen der immer wieder einmal auftretenden Fälle vor uns, wo die partielle Sterilisation bei unmittelbarer Beimpfung unwirksam ist (2 mm werden auch im natürlichen Boden erreicht). Hier tritt erst später die wachstumssteigernde Wirkung der partiellen Sterilisation in Erscheinung. Da der Verfasser (1942) an anderer Stelle gezeigt hat, daß bei der partiellen Sterilisation auch für *Ophiobolus graminis* toxische Stoffe gebildet werden, ist der Kurvenverlauf in der Gartenerde vielleicht so zu verstehen, daß solche durch die Erhitzung auftretenden Stoffe zunächst zerstört werden, nach 12 Tagen sich aber die Rückbildung des alten Gleichgewichtes bemerkbar macht.

Es muß daraus gefolgert werden, daß partiell sterilisierte Böden unmittelbar nach der Erhitzung und gleichzeitig zu verarbeiten sind.

2. Die parasitische Phase von Ophiobolus graminis.

Die quantitative Messung der Laufhyphenentwicklung nach der Methode von Garrett ist vom Verfasser in früheren Arbeiten ausführlich beschrieben (vgl. Winter 1942). Kleine pilzdurchwachsene Agarstückchen werden so unter die Samen gelegt, daß die Wurzeln durch sie wachsen müssen. Die Laufhyphen wachsen dann an den Wurzeln entlang. Ihre größte Ausdehnung wird unter dem Binokular (Auflicht) bestimmt.

C. Die Beeinflussung der saprophytischen Entwicklung von *Ophiopolus graminis* durch organische Nährstoffe.

Ökologie und Massenwechsel parasitischer und saprophytischer Pilze dürften in engem Zusammenhang mit dem Vorkommen organischer Stoffe stehen. Doch muß die Nährstoffkonkurrenz und die unterschiedliche Reaktion der übrigen Bodenmikroben auf organische Nährstoffzufuhr in leicht angreifbarer Form (vgl. Waksman und Starkey 1924) im Verein mit nachfolgenden Verschiebungen im mikrobiologischen Gleichgewicht durch antibiotische Kräfte die Wirkung auf einen Organismus, namentlich, wenn er antibiotisch empfindlich ist, gegenüber den Verhältnissen in Reinkultur abändern. Es bedarf daher einer Prüfung, wie weit die Verhältnisse im Boden Ähnlichkeit mit den in flüssigen oder auf festen Nährböden zu beobachtenden Beziehungen zwischen

Pilzentwicklung und Nährstoffkonzentration haben. Um die Zusammenhänge möglichst klar zu übersehen, wurde das Wachstum des Pilzes in Abhängigkeit von bestimmten Nährstoffen auf Agargallerten verschiedener Zusammensetzung und in Böden geprüft, die einen allmählichen Übergang zu den im natürlichen Boden herrschenden Verhältnissen darstellen.

Pepton (Witte), Glykose und Biomalz wurden in einer Konzentration von 0,15, 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 und 5% einem Agar, der mit Leitungswasser oder

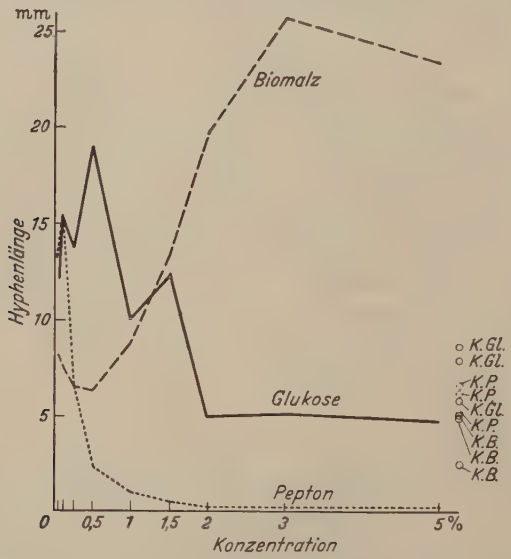


Abb. 4. Saprophytisches Wachstum von *Ophiobolus graminis* auf Glasplatten in Sand nach Zugabe verschiedener Mengen von Biomalz, Glykose und Pepton. K. B. = Kontrolle Biomalz, K. Gl. = Kontrolle Glykose, K. P. = Kontrolle Pepton.

mit einem sterilisierten Extrakt einer Komposterde bzw. eines Lößlehms angesetzt war, zugefügt. Gleiche Gaben wurden Lößlehm und Komposterde, oder einem 2 Std bei 100° C partiell sterilisierten Lößlehm bzw. gleichbehandelter Komposterde und einem feinen, chemisch reinen Sand beigemengt.

Der Agar wurde in Petrischalen ausgegossen und in der Mitte beimpft. Nach 7tägiger Versuchsdauer bei 25° C wurde auf jeweils 6 Schalen der Durchmesser der Kolonien bestimmt.

Sand und Erde waren lufttrocken und gleichmäßig gesiebt. Sie wurden mit der jeweiligen Konzentration des Nährstoffes in Leitungswasser bis zu 40% der maximalen Wasserkapazität angefeuchtet. Darauf wurde das Wachstum des Pilzes in diesen Böden in der oben beschriebenen Weise bei 19° C in 14tägiger Versuchsdauer auf Objektträgern bestimmt. Jedem Einzelwert liegen 100 Messungen zugrunde.

Bei der Untersuchung des Wachstums auf Agar wurde sehr häufig eine Schwankung in der Myceldichte beobachtet, die bei der Bestimmung der Entwicklung an Hand des Koloniendurchmessers nicht erfaßt wurde. Es scheint daher zunächst

exakter, die Mycelentwicklung in Flüssigkeitskulturen gravimetrisch zu bestimmen. Dagegen spricht aber, daß *Ophiobolus* so gut wie nicht in Lösungen, einerlei welcher Zusammensetzung, wächst, und daß auch bei der Messung des Wachstums im Boden Schwankungen in der Dichte des Mycels auftraten, die jedoch nicht berücksichtigt werden konnten, da eine einwandfreie Messung der Hyphendichte nicht möglich ist. Es erscheint daher bei Vergleichen am korrektesten, sowohl auf dem Agar wie im Boden die Schwankungen in der Myceldichte außer Betracht zu lassen und den damit entstehenden Fehler in Kauf zu nehmen.

Beginnen wir mit der Besprechung der Wirkung des Peptons (Abb. 4, 5, 6). Sowohl auf dem Leitungswasseragar wie dem Kompost- bzw. Lößlehmextraktagar läßt sich die bis 5% herauf wachstumssteigernde Wirkung des Peptons klar erkennen. Im Sand fördern dagegen zwar ganz schwache Konzentrationen, stärkere Gaben (von 0,5% ab) hemmen aber

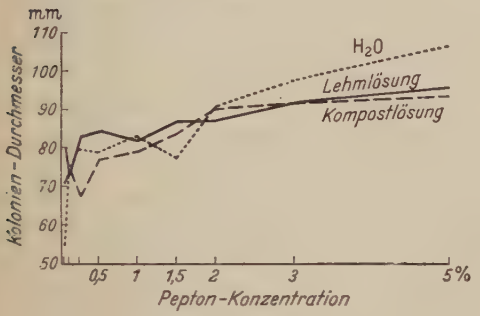


Abb. 5.

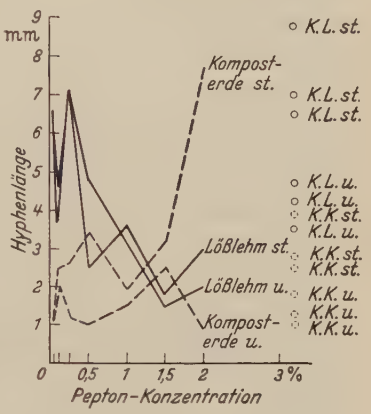


Abb. 6.

Abb. 5. Wachstum von *Ophiobolus graminis* in steriler Kultur auf Leitungswasser-Agar bzw. einem mit sterilem Lößlehm- oder Komposterde-Extrakt angesetzten Agar nach Zugabe verschiedener Peptonkonzentrationen.

Abb. 6. Saprophytische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Lößlehm und Komposterde in natürlichem Zustand oder nach partieller Sterilisation bei Zugabe verschiedener Mengen Pepton. K. L. st. = Kontrolle Lößlehm steril, K. L. u. = Kontrolle Lößlehm unsteril, K. K. st. = Kontrolle Komposterde steril, K. K. u. = Kontrolle Komposterde unsteril.

deutlich, bis sie schließlich ab 1% das Wachstum völlig ausgeschaltet haben. Ganz offensichtlich wird hier das Wachstum des Pilzes durch Bildung antibiotischer Stoffe seitens zufällig in den Sand geratener Mikroben verhindert. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir im natürlichen Lößlehm: günstige oder keine Wirkung gegenüber den Kontrollen bis 0,25%, dann zunehmende Hemmung. An diesem Verhalten ändert auch eine partielle Sterilisation nichts. Ganz anders ist die Reaktion des Pilzes in der Komposterde: Bei 0,1 und 1,5% Steigerung des Wachstums auf 2 bzw. 2,5 mm (gegenüber 1,0—1,7 mm in der Kontrolle) und bei den übrigen Konzentrationen Wirkungslosigkeit. Völlig abweichende Verhältnisse treten wiederum in partiell sterilisierter Komposterde

zutage: Hemmung gegenüber der Kontrolle bei der geringsten Konzentration, weitgehende Wirkungslosigkeit bei 0,1—1,5% und eine Steigerung des Pilzwachstums auf fast 8 mm bei 2%.

Ganz offensichtlich wird die reine Nährstoffwirkung im Boden überlagert durch die Tätigkeit anderer Mikroorganismen. Sie üben aber ihren Einfluß nicht in Form einer Nährstoffkonkurrenz aus. Dann müßten steigende Nährstoffgaben zunehmende Entwicklung auslösen, da der auf *Ophiobolus* entfallende Anteil sich erhöht. Das ist offensichtlich — abgesehen von 2% Pepton in partiell sterilisiertem Kompost — nicht der Fall. In dem partiell sterilisierten Kompost müßte bei Annahme einer Nährstoffkonkurrenz das Wachstum in 2% Pepton weit unter den in natürlicher Komposterde aufgefundenen Werten mit gleichem Peptongehalt liegen, da partielle Sterilisation schon nach 3—4 Tagen zu einer überaus starken Erhöhung der Mikrobenzahl bis zum Vielfachen der Werte in unbehandeltem Boden führt. Entscheidend ist also nicht das quantitative sondern das qualitative Moment. Das wird unterstrichen durch die Wirkung von 2% Pepton in partiell sterilisiertem Kompost, in dem durch die Nährstoffzugabe der hemmende Effekt der Bodenorganismen beseitigt wird, allerdings erst nach Umgestaltung der Bodenflora durch partielle Sterilisation.

Schon in früheren Arbeiten (WINTER 1942, 1948) wurden in der Bodenlösung Hemmungsstoffe nachgewiesen, deren Wirkung durch Auslaugen des Bodens mit Wasser vermindert werden kann. Sie sind vor allen Dingen die Ursache für die schwache Entwicklung des Pilzes in natürlichem Boden. Ihre Zerstörung (WINTER 1942) erklärt die Steigerung der Entwicklung nach der partiellen Sterilisation (siehe die Kontrollwerte in natürlichem und partiell sterilisiertem Boden). Auch diese und alle folgenden Ergebnisse deuten darauf hin, daß nicht oder kaum Nährstoffmangel der entscheidende Faktor für die schlechte Entwicklung des Pilzes in natürlichen Böden ist. Insbesondere ist zu berücksichtigen, daß ein Wachstum von 5—8 mm, wie es in dem Peptonversuch maximal auftritt, lediglich aus dem Nährstoffvorrat der Plättchen erfolgen kann. Damit scheidet für ein Wachstum dieser Größenordnung der Nährstoffgehalt des Bodens ohnehin als unwesentlich aus.

Sicher kann durch Nährstoffzugabe, insbesondere bei negativem Ausgang des Experimentes, nicht ohne weiteres entschieden werden, ob ein Organismus durch Nährstoffmangel oder Hemmungsstoffe mikrobieller Natur an einer besseren Entwicklung im Boden gehindert wird. Es kann nämlich der tatsächliche Nährstoffmangel durch die gleichzeitig angeregte Vermehrung von Antagonisten überdeckt werden, wie das die Entwicklung in Sand und Lößlehm nach Peptonzugabe besonders deutlich erkennen läßt. Ebensowenig kann man bei verbesserter Entwicklung nach Nährstoffzugabe ohne weiteres behaupten, daß vorher Nährstoff-

mangel der begrenzende Faktor gewesen wäre. Auch dieser Effekt kann auf einer Umsteuerung der Mikrobenentwicklung zu geringerer Hemmstoffbildung beruhen. Ob das eine oder das andere überwiegt, kann nur durch zusätzliche Experimente oder eine Vielzahl differenter Nährstoffzugaben entschieden werden. Wirken sich die untersuchten Nährstoffe verschiedenster Konzentration (trotz bekannter, günstiger Wirkung in Reinkultur) in der Regel kaum oder ungünstig aus, so darf man schließen, daß der Pilz gegen hemmende Einflüsse antibiotischer Natur außerordentlich empfindlich ist. Mit einiger Wahrscheinlichkeit wird also vor allem Toxinbildung, weniger aber Nährstoffmangel seine Entwicklung begrenzen.

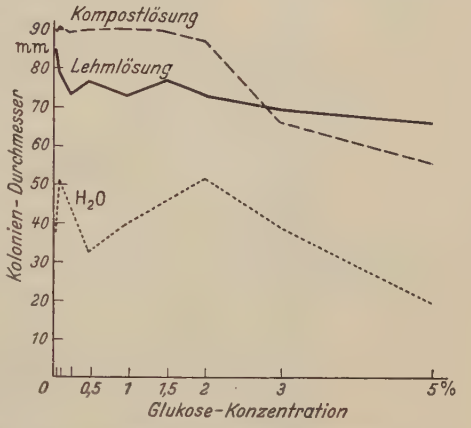


Abb. 7. Wachstum von *Ophiobolus graminis* in steriler Kultur auf Leitungswasser-Agar bzw. einem mit sterilem Lößlehm- oder Kompostextrakt angesetzten Agar nach Zugabe verschiedener Glykosekonzentrationen.

Für die natürliche Komposterde und den Lößlehm kommt man nach Peptonzugabe zweifellos zu diesem Ergebnis. Besonders deutlich wird diese Wirkung der Bodenmikroben im reinen Quarzsand, wo die doch mehr zufällige Verunreinigung des Sandes mit Mikrobenkeimen bei höherer Konzentration zu einer jede Entwicklung verhindernden toxischen Wirkung führt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Wirkung des Peptons im Sand und in natürlichen Böden völlig andersartig, ja zumeist entgegengesetzt den Verhältnissen auf künstlichen Nährböden unter sterilen Bedingungen ist. Die Wirkung hängt insbesondere stark von der Bodenart ab, wobei die partielle Sterilisation einen „neuen Boden" schafft. Die Wirkung der Nährstoffe auf *Ophiobolus graminis* wird vor allem durch ihren Einfluß auf die Entwicklung und Toxinbildung anderer Mikroben verursacht.

Diese Erscheinung drückt auch der Wirkung von Glykosegaben zu verschiedenen Böden ihren Stempel auf (Abb. 4, 7, 8). In Leitungswasser-, Kompost- und Lößlehmextraktagar geht das Wachstum bei steigender Glykosekonzentration stetig zurück. Im Sand zeigt sich ein deutliches Optimum bei 0,5% und darauf ein schroffer Abfall bis unter die Kontrollwerte. Auch hier kann nur die Toxinbildung diese Wachstumsdepression verursachen.

Sehr deutlich lassen auch Gartenerde und Komposterde im natürlichen und partiell sterilisierten Zustand erkennen, wie sehr die Bodenmikroben die Nährstoffwirkung überdecken.

In dem natürlichen Lößlehm und in der Komposterde sind Schwankungen in der Wuchsstärke zu beobachten, die in ihren Extremwerten als gesichert (man vergleiche die Schwankungen der drei Kontrollwerte) anzusprechen sind. In der Komposterde dürfte z. B. der Sprung von 0,3 mm auf 2,8 mm bei Erhöhung der Konzentration von 0,05 auf 0,5% und der Anstieg auf 2,5 mm bei 5% als gesichert angesehen werden,

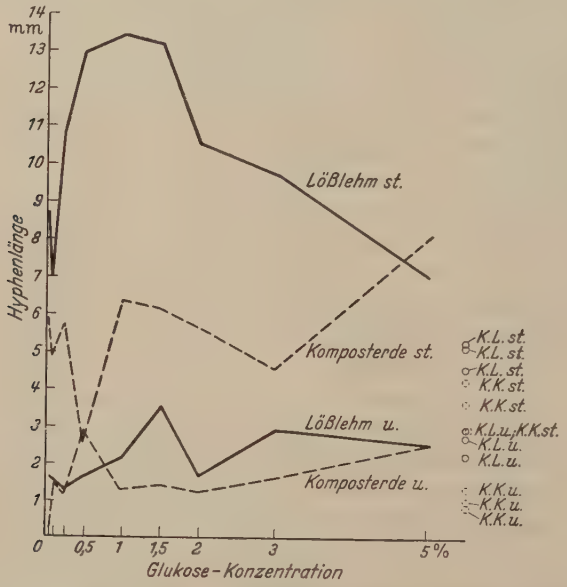


Abb. 8. Saprophytische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Lößlehm und Komposterde in natürlichem Zustand oder nach partieller Sterilisation bei Zugabe verschiedener Mengen Glykose. K. L. st. = Kontrolle Lößlehm steril, K. L. u. = Kontrolle Lößlehm unsteril, K. K. st. = Kontrolle Komposterde steril, K. K. u. = Kontrolle Komposterde unsteril.

ebenso in Lößlehm die Differenz zwischen 1,3 mm (bei 0,25%), 3,5 mm (bei 1,5%) und 1,7 mm (bei 2%). Eine klare Abhängigkeit von der Nährstoffkonzentration fehlt, doch kann im ganzen eher von einem mit höherer Konzentration zunehmenden Wachstum gesprochen werden. Die Wirkung der Glykose ist also gegenüber sterilen Verhältnissen vollkommen abgewandelt.

Das gleiche gilt für die partiell sterilisierten Böden. Im Lößlehm tritt eine ziemlich regelmäßige Kurve mit dem Optimum bei 1% in Erscheinung, deren Verlauf, wie ein Vergleich mit der Schwankungsbreite der Kontrolle klarstellt, weitgehend gesichert ist. Mit einer Nährstoffwirkung der Glycose muß hier gerechnet werden. In der partiell sterilisierten Komposterde zeigt die Abhängigkeit von der Nährstoffkonzentration ein völlig anderes Bild: eine durch tiefe Einbrüche gestörte, aber im

ganzen ansteigende Tendenz. Ein Vergleich beider Kurven veranschaulicht in besonders eindringlicher Weise den Einfluß der Mikrobentätigkeit auf die Nährstoffwirkung. Bei 0,5% Glykose liegt für die Komposterde das Minimum bei 2,5 mm, für den Lößlehm annähernd das Maximum bei 12,8 mm. Das Wachstum ist in dem Lößlehm also um 10,4 mm besser. Umgekehrt ist bei 5% die Entwicklung in der Komposterde stärker. Gleich auffällig ist das Zusammenfallen eines Minimums in der partiell sterilisierten Komposterde mit einem Maximum in natürlicher Komposterde.

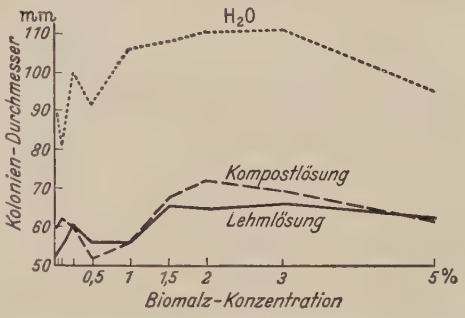


Abb. 9. Wachstum von *Ophiobolus graminis* in steriler Kultur auf Leitungswasser-Agar bzw. einem mit sterilem Lößlehm- oder Komposterde-Extrakt angesetzten Agar nach Zugabe verschiedener Biomalzkonzentrationen.

Bei der Erklärung der Ergebnisse bei Biomalzzugabe (Abb 4, 9, 10) muß berücksichtigt werden, daß das Wachstum in dem unsterilen Lößlehm (Kontrolle) wesentlich besser und die Schwankungsbreite

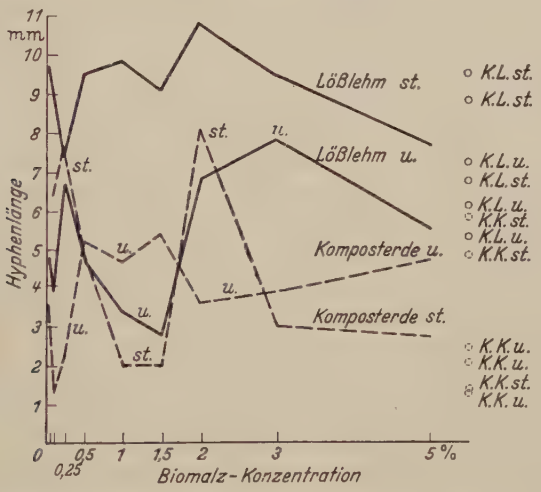


Abb. 10. Saprophytische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Lößlehm und Komposterde in natürlichem Zustand oder nach partieller Sterilisation bei Zugabe verschiedener Mengen Biomalz. K. L. st. = Kontrolle Lößlehm steril, K. L. u. = Kontrolle Lößlehm unsteril, K. K. st. = Kontrolle Komposterde steril ,K. K. u. = Kontrolle Komposterde unsteril.

der drei Kontrollwerte etwa doppelt so groß ist wie in den vorhergehenden Versuchen. Erheblich stärker sind die Differenzen der Kontrollwerte jedoch in partiell sterilisierten Böden. In der partiell sterilisierten

Komposterde und dem erhitzten Lößlehm sinkt ein Wert sogar um 4,0 bzw. 2,5 mm auf die gleiche Höhe wie in natürlicher Komposterde bzw. natürlichem Lößlehm ab. Das ist mit Rücksicht auf die sonst stets erzielte Einheitlichkeit der Resultate wahrscheinlich so zu erklären, daß in das durch die partielle Sterilisation erzeugte biologische Vakuum im Boden Infektionen aus dem Laboratorium einströmen und so in Einzelfällen zu außerordentlich starken Hemmungswirkungen gegenüber *Ophiobolus graminis* führen. Nach den Ergebnissen von KUBIENA und RENN (1934) darf man zwar damit rechnen, daß „Laboratoriumskeime" auch nach Zugabe von organischen Stoffen keinen Einfluß auf die Ergebnisse haben. Das gilt jedoch nur für natürliche Böden, da partiell sterilisierte Substrate für Neuinfektionen viel günstigere Bedingungen bieten.

Reinkulturen von *Ophiobolus graminis* auf Leitungswasser-, Kompost- oder Lößlehmextraktagar zeigen ein Wachstumsoptimum bei 3% Biomalz und bei 5% eine schwache Abnahme gegenüber dem Optimalwert. Während also in dem gleichen Sand Glykose und insbesondere Pepton zur Entwicklung einer stark antagonistischen Bodenflora führten, fehlt bei Biomalz ein solcher die Nährstoffwirkung vollkommen verdeckender Einfluß der Mikroflora. Trotzdem sind antagonistische Kräfte auch hier am Werke, wie die Verschiebung des Optimums auf 3% und das relativ sehr geringe Wachstum gegenüber der sterilen Biomalzkultur zeigt. Doch trügt die Erwartung, daß auch in anderen Böden (Abb. 9, 10) eine Ähnlichkeit mit der Wirkung in sterilen Kulturen zu beobachten wäre. War im Sandboden die qualitative Zusammensetzung der Mikroflora so einheitlich, daß ein stetiger Kurvenzug resultierte, so ergibt hier die Mannigfaltigkeit der in Mitleidenschaft gezogenen Bodenmikroben einen durch tiefe Einbrüche gestörten, nicht weiter analysierbaren Kurvenverlauf. Dabei könnte ein Teil der Störungen in den partiell sterilisierten Böden eventuell auf den gleichen Ursachen beruhen wie das Absinken einzelner Kontrollwerte in solcher Erde.

So gut wie alle Biomalzkonzentrationen erhöhen das Wachstum in der natürlichen Komposterde gegenüber der unbehandelten Kontrolle. Durch 0,5%, 1% und 2% Biomalz steigt das Wachstum bis auf die Höhe der Werte in partiell sterilisierter Erde ohne Nährstoffgabe an. Es wird also durch Nährstoffzufuhr die hemmende Wirkung des Bodens weitgehend aufgehoben. In einem anderen Versuch mit natürlichem Lößlehm (vgl. Abb. 11b) fördern Maismehl und 0,5% Pepton besonders auffallend. Gleiches gilt für die Laufhyphenentwicklung in dem Lößlehm nach Zugabe von Glykose, Biomalz und Pepton in verschiedenen Konzentrationen (Abb. 11a). Man könnte also doch zu dem Schluß kommen, daß hier vor allem Nährstoffmangel die Entwicklung des Pilzes hemmt. Da aber ein Wachstum von 5—8 mm aus dem Nährstoffgehalt der

Plättchen heraus erfolgen kann, wird diese Steigerung wahrscheinlich auf einer Abschwächung der hemmenden Bodeneinflüsse durch Umsteuerung mikrobieller Gleichgewichte und physiologischer Prozesse beruhen.

Zusammenfassend können wir feststellen:

1. Nährstoffgaben zu natürlichen Böden und zu sterilen Kulturen zeitigen abweichende Ergebnisse. Sogar in einem nicht sterilen Quarzsand besteht schon eine völlig andere Abhängigkeit zwischen Nährstoffgehalt und Pilzwachstum wie in sterilem Substrat.

2. Der Verlauf der Kurven in unsterilem, reinem Sand zeigt zumeist noch regelmäßige Tendenz. In den natürlichen oder partiell sterilisierten Böden fehlt dagegen mit einer Ausnahme jede einfache und stetige Beziehung zwischen Nährstoffgabe und Wachstum.

Als Erklärung dieser Erscheinung können wir anführen:

1. Eine Nährstoffwirkung von Pepton, Biomalz und Glykose fehlt in natürlichen und partiell sterilisierten Böden zumeist ganz oder fast ganz, da sich die Entwicklung des Pilzes in der Regel in Grenzen hält, die lediglich durch Wachstum mit Hilfe des Nährstoffvorrats aus dem Impfstück erreicht werden können. Nur in Sand und zum Teil in Gartenerde mit Glykose ist das Wachstum des Pilzes so weitreichend und so dicht, daß mit einer unmittelbaren Nährstoffwirkung zu rechnen ist. Schwankungen in der Wachstumsintensität nach Nährstoffgaben werden also wohl vor allem durch Veränderungen der Bodenmikroflora und ihrer Einwirkung auf *Ophiobolus graminis* verursacht.

2. Schon aus der Tatsache, daß die zufällig in dem chemisch reinen Sand und Leitungswasser enthaltenen Keime überaus starke antibiotische Effekte auslösen können, geht hervor, daß es sich hierbei im wesentlichen nicht um wenige, spezifische, nur in bestimmten Böden vorkommende Arten handelt. Allerdings ist die Artenzahl der Antagonisten in Sand so gering, daß noch eine regelmäßige Abhängigkeit zwischen Nährstoffgehalt und Wachstum resultiert. Der sprunghafte Kurvenverlauf in den natürlichen Böden dürfte dagegen durch die Vielzahl der Bodenmikroben, die an der Wirkung auf *Ophiobolus graminis* beteiligt sind, bedingt sein.

D. Die Beeinflussung der parasitischen Phase von *Ophiopolus graminis* durch organische Nährstoffe.

Schon früher wurde nachgewiesen (Winter 1942, 1947), daß antagonistische Einflüsse für die Laufhyphen und das saprophytische Mycel wachstumsbestimmend sind. Es dürfte aber der Antagonismus infolge der Sonderbedingungen in der Rhizosphäre in beiden Bereichen auf

verschiedene Ursachen zurückzuführen sein. Dringen nun die in freiem Boden wirksamen Einflüsse bis in die Rhizosphäre vor, oder herrscht in der wurzelnahen Zone ein „eigenes Klima", das weitgehend gegen die Bodeneinflüsse abgeschirmt ist?

Einblick in diese Probleme mußte die Untersuchung des parasitischen und saprophytischen Wachstums durch identische Versuchsreihen geben. Es wurde daher in zwei Parallelversuchen unter völlig gleichen Bedin-

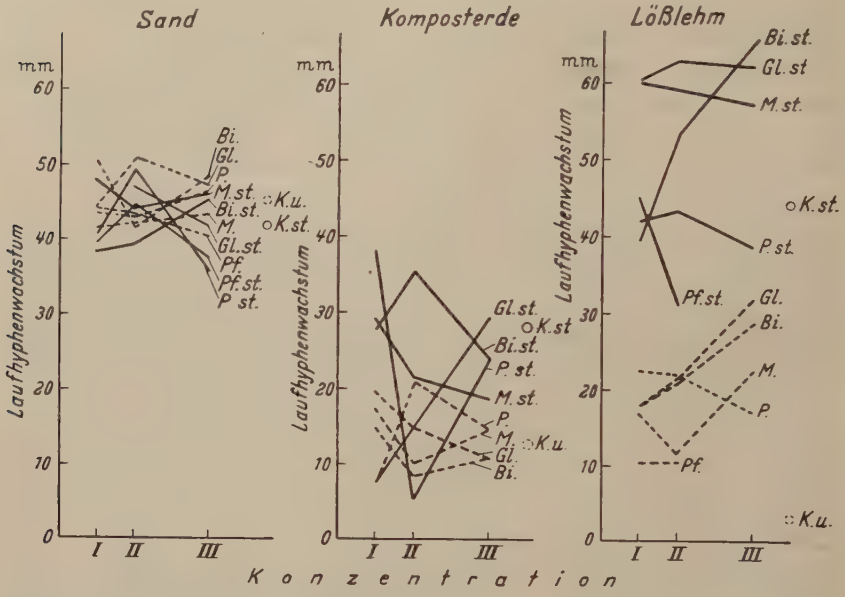
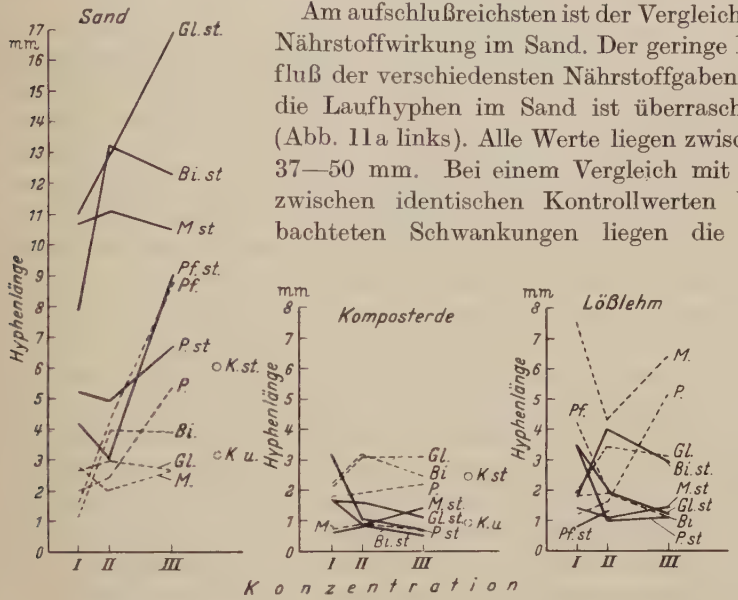


Abb. 11a. Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis* in Sand, Komposterde und Lößlehm in natürlichem und partiell sterilisiertem Zustand bei Zugabe verschiedener Mengen von Biomalz (Konzentration I = 0,25%, II = 0,5%, III = 1%), Glykose (I = 0,25%, II = 0,5%, III = 1%), Pepton (I = 0,125%, II = 0,25%, III = 0,5%), Mais (I = 0,5%, II = 1%, III = 2%) und Pferdemist (I = 25% der Ausgangskonzentration, II = 50% der Ausgangskonzentration, III = 100% der Ausgangskonzentration). K. st. = Kontrolle steril, K. u. = Kontrolle unsteril.

gungen der Einfluß dreier verschiedener Konzentrationen von Witte-Pepton, Biomalz, Glykose, Maismehlaufschwemmung und Pferdemistextrakt in einem durch lehmige Bestandteile leicht verunreinigten Flußsand, Lehm und Komposterde in partiell sterilisiertem und natürlichem Zustand untersucht (Abb. 11a und 11b).

2—4 mm Schwankung liegen nun bei dem starken Wachstum in der Rhizosphäre in der Fehlergrenze und besagen daher sehr wenig. Sie stellen aber für die saprophytische Entwicklung eventuell eine bedeutsame Verdoppelung der Werte gegenüber der Kontrolle dar. Es kommt jedoch bei einem Vergleich der Wirksamkeit von Nährstoffgaben im Bereich der Rhizosphäre und im freien Boden nicht auf die absoluten

Schwankungen, sondern auf die im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen ausgelösten relativen und fehlermäßig gesicherten Abweichungen an. Die Kurven für das saprophytische Wachstum wurden daher 5fach überhöht. Auf diese Weise wurden die Resultate in der Rhizosphäre und dem freien Boden unmittelbar vergleichbar, da wesentliche Unterschiede etwa gleich deutlich hervortraten.



Am aufschlußreichsten ist der Vergleich der Nährstoffwirkung im Sand. Der geringe Einfluß der verschiedensten Nährstoffgaben auf die Laufhyphen im Sand ist überraschend (Abb. 11a links). Alle Werte liegen zwischen 37—50 mm. Bei einem Vergleich mit den zwischen identischen Kontrollwerten beobachteten Schwankungen liegen die bei

Abb. 11b. Saprophytische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* auf Glasplatten in Sand, Komposterde und Lößlehm in natürlichem Zustand und nach partieller Sterilisation bei Zugabe von verschiedenen Mengen von Biomalz (Konzentration I = 0,25%, II = 0,5%, III = 1%), Glykose (I = 0,25%, II = 0,5%, III = 1%), Pepton (I = 0,125%, II = 0,25%, III = 0,5%), Mais (I = 0,5%, II = 1%, III = 2%) und Pferdemist (I = 25% der Ausgangskonzentration, II = 50% der Ausgangskonzentration, III = 100% der Ausgangskonzentration). K. st. = Kontrolle steril, K. u. = Kontrolle unsteril.

Nährstoffzufuhr ausgelösten Wachstumsänderungen kaum außerhalb der Fehlergrenze. Nur in wenigen Fällen ist eine stetig steigende oder fallende Tendenz zu beobachten, so daß insgesamt der Eindruck eines wesentlich durch Streuung bedingten Kurvenverlaufs entsteht. Gleichzeitig dürfte aber diese starke, nur hier beobachtete Bündelung aller Kurven als ein mittelbarer Beweis für die Zuverlässigkeit der Methodik gewertet werden.

Dagegen hängt das saprophytische Wachstum im Sand, wie wir schon aus früher aufgeführten Versuchen wissen, in zum Teil erstaunlicher Weise von dem Nährstoffgehalt ab (Abb. 11b links). Die Differenzen liegen weit außerhalb der Fehlergrenze, und in den Fällen deutlichster

Wirkung ist zumeist eine durchgehend fallende oder steigende Tendenz der Kurven zu sehen.

Die Rhizosphäre ist also im Sand gegen alle von außen kommenden Einflüsse so gut wie völlig abgeschirmt. Man könnte diese Erscheinung zunächst so zu erklären versuchen, daß die Nährstoffversorgung der Laufhyphen durch die in die Wurzel abzweigenden Infektionshyphen optimal ist und daher eine weitgehende Unabhängigkeit vom Nährstoffgehalt des Bodens bedingt, während gleichzeitig antagonistische Einflüsse in dem mikrobenarmen Sand unwesentlich sind. Dagegen sind die saprophytischen Mycelien in dem nahrungslosen Sand weitgehend von der Nährstoffzufuhr abhängig. Aber der hier auftretende starke Unterschied im saprophitischen Pilzwachstum in unbehandeltem und partiell sterilisiertem Sandboden (Abb. 11b) und die Tatsache, daß der an sich, also in steriler Kultur, stark fördernde Gehalt von 1% Biomalz bzw. 0,5% Pepton in nicht erhitztem Sand das Wachstum gegenüber den Kontrollen nicht ansteigen läßt, beweisen, daß auch in dem hier gebrauchten Sand nach Nährstoffzugaben starke antagonistische Effekte durch Entwicklung einer Bodenflora eintreten können. In dem chemisch reinen Sand (Abb. 4) der früher angeführten Versuche zeigte sich diese antagonistische Bodenflora in besonders deutlicher Weise.

Der Einwand, daß im Sand auch für die saprophytische Phase nach Nährstoffgaben kaum eine antagonistische Wirkung spürbar sei, da die Kontrollwerte kaum unterschritten werden, ist nicht stichhaltig. Unter sterilen Bedingungen würde nämlich nach Zugabe dieser Nährstoffe ein viel stärkeres Wachstum zu erwarten sein. Man muß daher schließen, daß diese antagonistischen Einflüsse nicht in die Rhizosphäre eindringen können bzw. dort neutralisiert werden.

Diese so grundsätzlichen Unterschiede zwischen Rhizosphäre und freiem Boden fehlen im Kompost und Lößlehm. Ein großzügiger Überblick (Abb. 11a u. 11b Mitte u. rechts) zeigt vielmehr in der Bündelung oder dem Auseinanderziehen der Kurven eine erhebliche Übereinstimmung — allerdings mit dem Unterschied, daß das Wachstum auf den Wurzeln etwa 5—10mal so groß ist.

Deutlich, zum Teil in extrem scharfer Form, läßt sich erkennen, wie nunmehr nicht nur für die freien Mycelien sondern auch für die Laufhyphen der Nährstoffgehalt des Bodens mittelbar oder unmittelbar von ausschlaggebender Bedeutung wird. Es bedarf dabei nach dem früher Gesagten keiner weiteren Erörterungen, daß vor allem die Änderung des Hemmstoffgehaltes zu diesem Effekt führt. Insbesondere darf man für die nährstoffunabhängigen Laufhyphen annehmen, daß mittelbare mikrobielle Effekte ihr Wachstum bestimmen.

Wie erklärt sich nun aber, daß im Sand die antagonistische Wirkung oder die mikrobielle Tätigkeit in der Rhizosphäre überhaupt nicht

hervortritt? Diese Erscheinung könnte in Zusammenhang mit dem unterschiedlichen Mikrobengehalt des Sandbodens und der beiden anderen Substrate stehen. Man könnte z. B. annehmen, daß sich von der geringen Anzahl der Bodenmikroben im Sand nur wenige Arten in der Rhizosphäre ansiedeln können, die überhaupt nicht, oder unter den dort herrschenden, vom übrigen Boden abweichenden Verhältnissen nicht antagonistisch wirksam sind. Dagegen fänden sich in der Vielzahl der Mikroben im Lößlehm bzw. Kompost stets viele Arten, die sich in der Rhizosphäre ansiedeln und dort bei Nährstoffzufuhr mittelbare Wirkungen gegenüber *Ophiobolus graminis* auslösen. Es bliebe dabei erstaunlich, daß im Sandboden keine Hemmungsstoffe in die Rhizosphäre hineingelangen, obwohl der ganze mit Nährlösung getränkte Sand Antibiotika in erheblicher Konzentration enthalten muß. Die Diffusion müßte sie rasch in die Rhizosphäre bringen. Und wie soll man dann erklären, daß die Rhizosphären-Mikroflora im Sand so zusammengesetzt ist, daß jeder im Boden nach verschiedenartigster Nährstoffgabe gebildete Hemmstoff umgewandelt oder irgendwie unschädlich gemacht wird?

Eine solche „Entgiftung" in der Rhizosphäre scheint in der Tat möglich zu sein. Die Laufhyphen zeigen nämlich in Lößlehm und Kompost ein viel besseres Wachstum als freie Mycelien. Nun führt die Natur im Bereich der Rhizosphäre das Experiment durch, den Pilz aus der Wurzel optimal zu ernähren, ohne durch diese „sterile" Nährstoffzufuhr die restliche Mikroflora zu beeinflussen. Da die Entwicklung des Pilzes in der Rhizosphäre erheblich besser ist als im freien Boden, könnten wir schließen, daß in der Erde neben dem Antagonismus auch der Nährstoffmangel begrenzender Faktor ist. Doch ist eine solche bessere Entwicklung in der Rhizosphäre von Weizenwurzeln auch dann zu beobachten, wenn *Ophiobolus* — wie es im Sand häufig zu erkennen ist — am Rand der Rhizosphäre, ohne Infektionshyphen abzuzweigen, wächst (Winter 1942). Ebenso ist beim Eindringen in die Rhizosphäre nicht anfälliger Pflanzen (Winter 1948) häufig eine ganz auffällige Entwicklungssteigerung zu beobachten, die unter gleichen Bedingungen durch Nährstoffgaben nicht zu erzielen ist. Es deutet das auf Sonderbedingungen in der Rhizosphäre, die zu einer Entgiftung des Bodens oder einer physiologischen Umstimmung des Pilzes führen. Auch die Unfähigkeit des Pilzes, sich unter natürlichen Verhältnissen aus der Rhizosphäre zu entfernen, läßt auf ein Reizgefälle zwischen Boden und Rhizosphäre schließen.

Es herrschen also in der Rhizosphäre Sonderbedingungen bezüglich der antibiotischen Verhältnisse und damit hinsichtlich der Mikroflora, über deren Natur wir noch keine nähere Auskunft geben können. Diese Beobachtung ist besonders interessant, da Eaton und Rigler (1946)

festgestellt haben, daß die Rhizosphärenflora die Resistenz von *Mais*, in natürlichem Boden gegenüber *Phymatotrichum omnivorum* bedingt. Wird *Mais* unter vollkommen sterilen Bedingungen im Sand aufgezogen, so wird die sonst resistente Pflanze von *Phymatotrichum* befallen. Die Rhizosphärenflora hat also hinsichtlich ihrer antibiotischen Wirkung einen besonderen, artgebundenen Charakter. Da die Resistenz von *Mais*, und das ist die interessanteste Folgerung, die EATON und RIGLER nicht gezogen haben, auf allen natürlichen Böden in Erscheinung tritt, muß man wohl eine erhebliche, von der Bodenart nicht berührte Konstanz in dem Artenbestand der Rhizosphäre annehmen. Es liegt bei der außerordentlichen Empfindlichkeit von *Ophiobolus graminis* gegenüber antibiotischen Wirkungen nahe, die unterschiedliche Resistenz verschiedener Arten gegenüber diesem Pilz mit der Zusammensetzung der Rhizosphärenflora in Verbindung zu bringen. Auch eine nähere Analyse der Nährstoffwirkung in Gartenerde oder Kompost zeigt uns, daß erhebliche Unterschiede in der Auswirkung von Nährstoffgaben im freien Boden und in der Rhizosphäre bestehen. Dabei soll nicht auf einzelne feine Unterschiede im Kurvenverlauf eingegangen werden, da diese innerhalb der Fehlergrenze liegen können. Nur gesicherte Differenzen mögen angeführt werden. Im partiell sterilisierten Kompost ist das saprophytische Wachstum bei allen Biomalzkonzentrationen schlechter oder nicht besser als in natürlichem Kompost, das Wachstum der Laufhyphen dagegen zumeist eindeutig besser. Noch stärkere, weit außerhalb jeder Fehlermöglichkeit stehende Differenzen zeigt die Wirkung von Maismehl in Gartenerde. Das saprophytische Wachstum ist bei sämtlichen Maismehlkonzentrationen optimal im natürlichen, sehr schlecht dagegen im partiell sterilisierten Lößlehm; die parasitische Entwicklung ist dagegen maximal im partiell sterilisierten und extrem schwach im natürlichen Boden. Ähnliche starke Unterschiede bestehen zwischen der Wirkung von Biomalz in Lößlehm und Glykose in Komposterde auf die saprophytische Entwicklung und das Laufhyphenwachstum usw.

Sicher ist für die partiell sterilisierten Böden zu berücksichtigen, daß Laboratoriumsinfektionen eingreifen können. Doch ist in den hier genannten Fällen bei allen Konzentrationen der Unterschied zwischen Rhizosphäre und freiem Boden so eindeutig vorhanden, daß die Interferenz solcher zufälliger Infektionen sehr unwahrscheinlich ist. Zudem erkennt man, daß die Nährstoffwirkung für die Rhizosphäre und den freien Boden in den natürlichen Erden, in denen solche Fehler ausscheiden (siehe oben), gleichfalls zumeist völlig abweichend, ja invers ist.

Ein Vergleich der Nährstoffwirkung auf die saprophytische Phase in diesen und vorangegangenen Versuchen mit dem Ziel, die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu kontrollieren, erscheint abwegig, da die Böden nicht der gleichen Herkunft waren.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß zwischen der Rhizosphäre und dem freien Boden erhebliche Unterschiede in der Wirksamkeit verschiedener Nährstoffgaben bestehen. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß alle Ergebnisse sich in keiner Weise der Theorie von Garrett (1936) einordnen lassen, nach der der CO_2-Gehalt des Bodens der entscheidende Faktor für die Laufhyphenentwicklung sein soll.

E. Nährstoffgehalt und Epidemiologie der Ophiobolose.

Voraussagen über die Auswirkung leicht zersetzlicher Nährstoffgaben für die saprophytische und parasitische Phase sind also kaum zu machen. Eine Gabe in bestimmter Höhe mag hemmen, eine andere geringere oder höhere Dosis oder dieselbe Gabe in anderer Zubereitung kann deutlich entwicklungssteigernd wirken. So beobachtete Winter (1942), daß eine Beimischung von 5% grob geschnittener *Vicia faba* zu humusreichem Sandgemisch das Wachstum der Laufhyphen von 35,8 (Kontrolle) auf 23,9, bei 10% auf 2,2 mm, bei Zugaben breiig gequetschter *Vicia* auf 3,2 mm (5%) bzw. 18,7 mm (10%) absinken läßt. Für beide Lebensabschnitte kann ferner durch Nährstoffgaben zum natürlichen Boden die Entwicklung nicht selten so erheblich gesteigert werden (vgl. unsterile Komposterde in Abb. 10, unsteriler Lehm in Abb. 11a und 11b), daß der Pilz nunmehr in dem sonst vor jeder Infektion schützenden Humus oder dem gleichsinnig wirkenden Lößlehm gleich stark wächst bzw. infiziert wie im Sand oder der durch partielle Sterilisation ihrer infektionshemmenden Eigenschaften beraubten Komposterde oder Lößlehm. Jedenfalls ist nach Zufuhr organischer Stoffe durchaus nicht immer eine Hemmung des Pilzes zu erwarten, wie man das in Verallgemeinerung positiver Ergebnisse bei antibiotisch empfindlichen Organismen nur zu leicht erwarten könnte (vgl. für Kartoffelschorf: Sanford 1926, Flachswelke: Bolley und Manns 1932, cotton-root-rot: King und Eaton 1934a, 1934b).

In den vorliegenden Versuchen wurden allerdings zum Teil relativ hohe Dosen leicht zersetzlicher Verbindungen in den Boden eingebracht und insofern wurde von den in der Natur gegebenen Verhältnissen abgewichen. Es kam aber zunächst einmal darauf an, das biologische Gleichgewicht durch kräftige Stöße zu verschieben, um im Experiment möglichst deutliche Antworten zu erhalten. Zudem lehrte schon der Versuch mit *Vicia faba*, daß auch mildere Eingriffe, wie wir sie im Gefolge von Kulturmaßnahmen erwarten können, deutliche und zum Teil umkehrbare Entwicklungsänderungen auslösen können. Sicherlich aber bedarf der Effekt normaler Düngungsmaßnahmen weiterer Untersuchungen.

Wir müssen weiterhin in Rechnung stellen, daß die Zersetzung des durch *Ophiobolus* befallenen Pflanzengewebes von Nährstoffen zum Teil

in ganz anderer Weise beeinflußt wird. So beschleunigen nach GARRETT (1938) Glykose, Stärke, rye-grass-meal in verschiedenen Konzentrationen in jedem Fall die Zersetzung des Mycels in dem Pflanzengewebe, während für die Mycelneubildung eine gleichsinnige, also hemmende Wirkung durchaus nicht immer zu erwarten ist. Die Zersetzung des verseuchten Pflanzengewebes wird aber zumeist ebenso wichtig, ja häufig von größerer Bedeutung als die saprophytische Neubildung von Mycel sein. Namentlich, wenn anfällige Pflanzen rasch hintereinander angebaut werden, wird die Mycelzersetzung der entscheidende Faktor, da die verseuchten Pflanzenreste unmittelbar nach dem Anbau von Wirtspflanzen die Masse des Infektionsmaterials stellen werden. Bei vieljährigem Abstand zwischen dem Anbau von Weizen wird dagegen die saprophytische Neubildung von Mycel häufig ausschließlich den Fortbestand der Bodenverseuchung sichern müssen.

Ferner erschwert die Prognose der Verseuchung, daß nach eigenen (vgl. WINTER 1948) großenteils unveröffentlichten Ergebnissen die Entwicklung des Pilzes in der Rhizosphäre nicht anfälliger Pflanzen gegenüber dem „freien" Boden gesteigert ist. Es kommt gleichsam zur Bildung einer peritrophen Mykorrhiza (JAHN 1934). Von diesem Gesichtspunkt aus ist das von MÜLLER-KÖGLER (1938) beobachtete mehr oder minder starke Eindringen in verschiedene Pflanzen, ohne daß es zu Krankheitssymptomen kommt, ein Übergang von der peritrophen zur endotrophen Mykorrhiza. Eine solche Abstufung von lockerem Zusammenleben bis zur endotrophen Mykorrhiza bildet z. B. die Reihe *Ranunculus repens*, *Fagopyrum esculentum*, *Urtica urens*, *Linum usitatissimum*.

Wir müssen bei der Erklärung des Massenwechsels von *Ophiobolus graminis* weiter in Betracht ziehen, daß Ursachen unbekannter Art dazu führen können, daß die Entwicklung des Pilzes plötzlich erheblich emporschnellt. Wenn diese Änderung nach den in der Abb. 1 zusammengefaßten Ergebnissen auch nur eine Steigerung des Wachstums von 0,5—1,0 mm auf 2—3 mm, also um 1—2 mm verursacht, so sind diese Wirkungen doch prozentual mit 200—400%, ja, wenn man die Dichte des Mycels berücksichtigt, noch höher anzusetzen. Hinzu kommt, daß nach bisherigen, noch nicht systematisch unterbauten Beobachtungen (siehe das Wachstum der Kontrolle in natürlicher Gartenerde (Abb. 10) mit 5,2—7,2 mm) diese Sprünge u. a. zu erheblich stärkerem Wachstum führen können.

Man könnte geneigt sein, solchen Einflüssen eine beherrschende Rolle für den Massenwechsel des Pilzes zuzuschreiben. Immer wieder treten in einem größeren Gebiet über die verschiedensten Bodentypen und Fruchtfolgen hinweg Jahre mit schweren *Ophiobolus*-Schäden und Jahre auf, in denen es schwer hält, einzelne weißährige Pflanzen zu finden.

Es schieben sich hier also anscheinend über Kulturmaßnahmen und Bodentypen Faktoren von allgemeiner und durchschlagender Bedeutung in den Vordergrund. In der Tat wird z. B. die Wirkung von Temperatur und Feuchtigkeit wenig durch den Bodentyp und das übrige Milieu beeinflußt. Das gilt für die parasitische Phase (Winter 1940) und nicht minder für die saprophytische Entwicklung, die nach eigenen unveröffentlichten Untersuchungen unabhängig vom Bodentyp bei einer Bodenfeuchtigkeit von 80—90% der m. W. K. optimal verläuft. Trotzdem darf die Bedeutung solcher Faktoren für die Verbreitung des Pilzes im Boden nicht überschätzt werden. Weißährigkeit tritt z. B. insbesondere dann auf, wenn nach Zersetzung der obersten Teile des Halmes und der Kronenwurzeln infolge hoher Bodenfeuchtigkeit in der obersten Ackerkrume und hoher relativer Feuchtigkeit in der bodennahen Luftschicht und nach kräftigen Niederschlägen im Laufe des Frühsommers die keine stärkeren Anspannungen im Wasserhaushalt gewohnten Pflanzen von großer Dürre getroffen werden. Bei gleicher Bodenverseuchung und gleichem Befall der tieferen Wurzelteile, aber geringerer Feuchtigkeit in der obersten Bodenkrume zu diesem Zeitpunkt wird diese Form der Krankheit, die von uns in der Regel allein erkannt und in der Epidemiologie berücksichtigt wird, zumeist ausbleiben. Bodenverseuchung, Infektionsstärke und Schadauftreten sind eben getrennte und durchaus nicht immer parallel laufende Erscheinungen.

Im Freiland kommt eine weitere Komplikation hinzu. In allen Versuchen wurde die Erde ganz locker gekrümelt gehalten, so daß namentlich mit Rücksicht auf die geringe Höhe der Erdschicht über der Glasplatte (2 cm) für den Pilz eine optimale Durchlüftung sichergestellt war. Damit waren Schwankungen in der CO_2-Konzentration, die im Gefolge der Nährstoffgaben zu erwarten sind, für den überaus CO_2-empfindlichen Pilz ausgeschaltet. Die zumeist sehr unterschiedliche und im ganzen sehr dichte Bodenstruktur im Freiland wird aber bewirken, daß der Erfolg organischer Nährstoffzufuhr in nicht unbeträchtlichem Ausmaß von der Kohlendioxydanhäufung im Boden bestimmt wird.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben also in praktischer Hinsicht zum Teil wenig erfreuliche Konsequenzen. Das Geschehen im Boden erweist sich also so komplex, daß selbst bei gut untersuchten Böden Prognosen über die Wirkung organischer Stoffe nicht gestellt werden können. Auch jede Verallgemeinerung der Ergebnisse, selbst für geringfügig abweichende Verhältnisse ist unmöglich, so daß an eine generelle Lösung dieser Probleme nicht zu denken ist. Es ist zu vermuten, daß auch die Zufuhr anorganischer Salze, wie sie im Zuge der künstlichen Düngung zur Anwendung kommt, gleich unübersichtliche Wirkungen zeitigt.

Zusammenfassung.

1. Die von WINTER (1947) angegebene Methode zur quantitativen Messung des Pilzwachstums in natürlichen Böden wird auf ihre Zuverlässigkeit überprüft. Die Streuung der Werte ist in natürlichen Böden gering, doch treten bei Wiederholung in allen Bedingungen identischer Versuche in Abständen von 14 Tagen in Lößlehm und Kompost zu verschiedenen Zeiten Sprünge zu kräftigerer Entwicklung auf. Ein Zusammenhang mit Witterungseinflüssen unbekannter Natur (BORTELS) wird vermutet.

2. Der auf sterilen Nährböden beobachtete gesetzmäßige Zusammenhang zwischen Nährstoffgehalt (Pepton, Glykose, Biomalz in Konzentrationen von 0,05—5%) und Pilzwachstum wird schon in reinem, nicht sterilem Sand vor allem durch antibiotische Einflüsse in einer allerdings noch übersichtlichen Weise verändert. Die Umformung steigert sich in Kompost und Lößlehm durch Verstärkung oder Abschwächung antibiotischer Prozesse bis zu unstetigem, sprunghaftem Kurvenverlauf.

3. Vergleichende Untersuchungen zwischen der Nährstoffwirkung in der Rhizosphäre und im freien Boden zeigen, daß die Rhizosphäre im Sand gegen Einflüsse aus dem Boden weitgehend abgeschirmt ist. Nährstoffgaben lassen auch in Kompost und Lößlehm innerhalb der Rhizosphäre zum Teil die umgekehrte Wirkung erkennen.

Besonderen Dank schulde ich Fräulein HILDEGARD SCHNEIDERS für ihre sorgfältige und aufopfernde Mitarbeit bei diesen Untersuchungen.

Literatur.

ADAM, D. B., and T. T. COLQUHOUN: The spread of take-all through the soil. J. Austr. Inst. agric. Sci., Sydney, **2**, 172—174 (1936).

BLAIR, I. D.: Behaviour of the fungus *Rhizoctonia solani Kühn* in the soil. Ann. appl. Biol., London, **30**, 118—127 (1943). — BOLLEY, H. L., and T. F. MANNS: Fungi of flax seed and flax-sick soil. Bull. N. Dak. agric. Exp. Sta., Fargo, 259 (1932). — BORTELS, H.: Meteorobiologische Untersuchungen an Azotobacter. Zbl. Bakteriol., Abt. II, **102**, 129—153 (1940); Über Beziehungen zwischen epidemiologischem und meteorologischem Geschehen, unter besonderer experimenteller Berücksichtigung der Inhibinwirkung. Zbl. Bakteriol., Abt. II, **104**, 289—325.

EATON, F. M., and N. E. RIGLER: Influence of carbohydrate levels and root-surface microfloras on *Phymatotrichum* root rot in cotton and maize plants. J. agric. Res., Washington, **72**, 137—161 (1946).

FELLOWS, H.: Effect of certain environmental conditions on the prevalence of *Ophiobolus graminis* in the soil. J. agric. Res., Washington, **63**, 715—726 (1941). — FELLOWS, H., and C. H. FICKE: Soil infestation by *Ophiobolus graminis* and its spread. J. agric. Res., Washington, **58**, 505—519 (1939).

GARRETT, S. D.: Soil conditions and the take-all disease of wheat. Ann. appl. Biol., London, **23**, 667 (1936); Soil conditions and the take-all disease of wheat. II. The reaction between soil reaction and soil aeration. Ann. appl. Biol., London, **24**, 747 (1937); Soil conditions and the take-all disease of wheat. III. Decomposition of the resting mycelium of *Ophiobolus graminis* in infected wheat stubble buried in the soil. Ann. appl. Biol., London, **25**, 742—766 (1938); Soil conditions and the take-all disease of wheat. V. Further experiments on the survival of *Ophiobolus*

graminis in infected wheat stubble buried in the soil. Ann. appl. Biol., London, **27**, 199—204 (1940); Soil conditions and the take-all disease of wheat. VII. Survival of *Ophiobolus graminis* on the roots of different grasses. Ann. appl. Biol., London, **28**, 325—332 (1941); The take-all disease of cereals. Imperial bureau of soil science. Technical communication No. 41, 1942; Soil conditions and the take-all disease of wheat. VIII. Further experiments on the survival of *Ophiobolus graminis* in infected wheat stubble. Ann. appl. Biol., London, **31**, 186—191 (1944); Root disease fungi. Annales Cryptogamici et Phytopathologici, Vol. I., Waltham, USA, 1944.

Jahn, E.: Die peritrophe Mykorrhiza. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 463—474 (1934).

King, C. J.: A method for the control of cotton root rot in the irrigated southwest. Circ. U. S. Dep. Agric., Washington, 425 (1937). — King, C. J., and E. D. Eaton: Some microbiological activities affected in manurial control of cotton root rot. J. agric. Res., Washington, **49**, 1093—1107 (1934); Further observations on the natural distribution of the cotton root rot fungus. Phytopathology, Lancaster, Pa., **24**, 551—553 (1934). — Kubiena, W., and Ch. E. Renn: Micropedological studies of the influence of different organic compounds upon the microflora of the soil. Zbl. Bakteriol., Abt. II, **91**, 267—292 (1934).

Liesau, O. F.: Zur Biologie von *Didymella lycopersici*, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit. Phytopathol. Z. **5**, 1—40 (1932).

Müller, K. O.: Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Hypochnus solani P. u. D.* (*Rhizoctonia solani K.*). Arb. Biol. Reichsanst., Berlin, **13**, 197—262 (1924). — Müller-Kögler, E.: Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Getreides und den Wirtspflanzenkreis ihres Erregers. Arb. Biol. Reichsanst., Berlin, **22**, 271—319 (1938).

Niethammer, A.: Die mikroskopischen Bodenpilze. Gravenhage 1937.

Padwick, G. W.: Influence of wild and cultivated plants on the multiplication, survival and spread of cereal foot-rotting fungi in the soil. Canad. J. Res., Ottawa, **12**, 575—589 (1935).

Rea, H. E.: The effect of tillage on eradication of cotton root rot. J. Amer. Coc. Agron., **25**, 764—771 (1933); The control of cotton root rot in the Blackland region of Texas. Bull Tex. agric. Exp. Sta., Texas, 573 (1939). — Russel, R. C.: Studies of take-all and its causal organism *Ophiobolus graminis*. Dom. of Canada, Dep. of Agric. Bull. Nr. 170, New Series, Ottawa, 1934.

Sanford, G. B.: Some factors affecting the pathogenicity of Actinomyces scabies. Phytopathology, Lancaster, Pa., **16**, 525—547 (1926). — Schaffnit, E., u. K. Meyer-Hermann: Beiträge zur Kenntnis der Wechselbeziehungen zwischen Kulturpflanzen, ihren Parasiten und der Umwelt (3. Mitteilung). Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. Phytopathol. Z. **2**, 99—166 (1930).

Waksman, S. A., and R. L. Starkey: Influence of organic matter upon development of fungi, actinomycetes and bacteria in soil. Soil Sci., Baltimore, Md., **17**, 373 (1924). — Winter, G.: Der Einfluß der physikalischen Bodenstruktur auf den Infektionsverlauf bei der Ophiobolose des Weizens. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz **49**, 513—559 (1939); Die Infektion des Weizens durch *Ophiobolus graminis* als Funktion der Bodenfeuchtigkeit. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz **50**, 326—356 (1940); Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopathol. Z. **14**, 204—302 (1942); Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Wachstums parasitischer oder saprophytischer Pilze im natürlichen Boden. Festschrift Appel, Biol. Zentralanst., Berlin, 12—15 (1947); Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. Arch. Mikrobiol. **14**, 240—270 (1949).